UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS

JULIA OLIVEIRA RIBEIRO DA SILVA

AVALIAÇÃO DO MECANISMO DE AÇÃO DO DERIVADO SB200 NAS VIAS APOPTÓTICAS EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE CÂNCER DE PULMÃO

Recife
2025

JULIA OLIVEIRA RIBEIRO DA SILVA

AVALIAÇÃO DO MECANISMO DE AÇÃO DO DERIVADO SB200 NAS VIAS APOPTÓTICAS EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE CÂNCER DE PULMÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Profª Drª Michelly Cristiny Pereira

Coorientador: Msc. Thiago Douberin da Silva

Recife
2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva, Julia Oliveira Ribeiro da.
Avaliação do mecanismo de ação do derivado SB200 nas vias apoptóticas em modelos experimentais de câncer de pulmão / Julia Oliveira Ribeiro da Silva. - Recife, 2025.
53p. : il., tab.

Orientador(a): Michelly Cristiny Pereira
Cooorientador(a): Thiago Douberin da Silva
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2025.
Inclui referências, anexos.

1. Neoplasia pulmonar. 2. Tratamento. 3. Tiofeno. 4. Apoptose. 5. Uretano. I. Pereira, Michelly Cristiny. (Orientação). II. Silva, Thiago Douberin da. (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

JULIA OLIVEIRA RIBEIRO DA SILVA

AVALIAÇÃO DO MECANISMO DE AÇÃO DO DERIVADO SB200 NAS VIAS APOPTÓTICAS EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE CÂNCER DE PULMÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: ___/___/____

BANCA EXAMINADORA

_____

Orientadora: Profª Drª Michelly Cristiny Pereira
Universidade Federal de Pernambuco/Departamento de Fisiologia e Farmacologia

_____

Drª Flaviana Alves dos Santos
Universidade Federal de Pernambuco/Centro de Biociências

_____

Prof. Dr. Eduardo Carvalho Lira
Universidade Federal de Pernambuco/Departamento de Fisiologia e Farmacologia

Dedico este trabalho aos meus pais, Erivania e Givaldo, que fizeram de tudo para que eu chegasse até aqui, e ao meu irmão, Diego. Minhas conquistas nunca puderam ser apenas minhas; esta e todas as que ainda vierem serão nossas. Obrigada por todo o apoio e por sempre acreditarem em mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha orientadora Profª Drª Michelly Pereira por todo o apoio, encorajamento e aprendizado que me deu desde quando esse trabalho era apenas uma ideia até o período de escrita, correções e envio da versão final. Obrigada por estar presente durante cada etapa da execução desse trabalho. Agradeço também ao meu coorientador Msc. Thiago Douberin pela ajuda e pelos ensinamentos durante esse período.

A todos os técnicos e demais colaboradores do Departamento de Fisiologia e Farmacologia do Centro de Biociências (DFF-CB) e do Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica - Suely Galdino (NUPIT-SG) da UFPE, expresso minha sincera gratidão pela assistência e colaboração prestados durante o período de execução deste trabalho.

A Bárbara, João Pedro e Matheus pela maratona de experimentos que tivemos que fazer para que os resultados desse trabalho fossem entregues dentro do prazo. Agradeço muito por toda a ajuda e disposição de vocês, sem isto eu não teria conseguido entregar esse trabalho da forma que eu pretendia quando comecei, cada um de vocês foi essencial do começo até o fim deste trabalho.

Agradeço a CNPq pelo apoio financeiro durante a minha graduação, que foi essencial para minha formação e desenvolvimento dos meus trabalhos.

Gostaria de agradecer principalmente aos meus pais, Erivania e Givaldo, e ao meu irmão, Diego. Vocês não contribuíram na parte acadêmica deste trabalho, mas foram vocês que me incentivaram a não desistir e ser forte para chegar até aqui. Foram vocês que aguentaram meu mau humor quando as coisas estavam dando errado, vocês que me escutaram reclamar de tudo e de todos e foi por causa de vocês três que eu consegui. Muito obrigada por serem a melhor família e a melhor rede de apoio que alguém poderia ter.

Mesmo tendo agradecido no parágrafo anterior, eu sinto que devo um parágrafo inteiro apenas para mainha. Eu nem sei como listar tudo que eu tenho a agradecer, mas obrigada por todas as pequenas coisas que a senhora fez e faz por mim, como me levar até a parada quando eu precisei sair muito cedo e acordar mais cedo para preparar o meu almoço quando sabia que eu não ia ter tempo de sair e almoçar. Entre todas as pessoas, eu sei que você é a minha maior fã e eu sou a sua, obrigada por ser você.

Também quero agradecer ao meu amigo e parceiro de laboratório, Henrique, que entre todas as pessoas que fizeram esse trabalho acontecer, foi a que mais esteve presente para me ajudar, tirar todas as minhas dúvidas e me forçar a trabalhar. Eu sou muito agradecida pelo dia que Michelly me mandou para o LaITA, porque desde aquele dia tudo dentro do laboratório virou trabalho para duas pessoas. Obrigada por tanto e que venha o mestrado!

Por fim, quero agradecer as irmãs que a vida me deu, Ana Julia e Juliane, que mesmo distantes sempre se fizeram presentes para mim, principalmente nesse período, aguentando minhas reclamações e meus surtos. Obrigada Anaju por todas as mensagens, desde as mais bobas até as de apoio e incentivo e Ju por todas as mensagens de apoio e registros diários do nosso pedacinho de gente, essas fotos e vídeos salvaram o meu semestre inteiro. Vocês são duas das melhores pessoas que eu já tive o prazer de conhecer e manter na minha vida.

Eu amo cada um de vocês, muito obrigada por tornarem as coisas mais fáceis para mim durante esse período!

“Às vezes, é bom começar a jornada sem saber aonde estamos indo.”
— James Norbury, *O Grande Panda e o Pequeno Dragão*.

SILVA, Julia Oliveira Ribeiro da. **Avaliação do mecanismo de ação do derivado SB200 nas vias apoptóticas em modelos experimentais de câncer de pulmão**. 2025. 53 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

RESUMO

O câncer de pulmão (CP) é a principal causa de óbito mundialmente, com o tabagismo como principal fator de risco. O tratamento apresenta muitos desafios, como a resistência à quimioterapia e a alta toxicidade. Neste sentido, é necessário estudar moléculas, como os derivados tiofênicos, com suas atividades antitumorais. Este estudo visou entender o mecanismo de ação relacionado às vias apoptóticas do derivado SB200 no CP, por meio de análise da expressão dos genes Bax (pró-apoptótico) e Bcl-2 (anti- apoptótico) em modelos *in vitro* e *in vivo*. Para os ensaios *in vitro*, a linhagem NCI-H1299 foi semeada em placas com densidade de $5x10^4$ células/poço e exposta a concentração do IC_{50} de 25,87 µM do SB200. Após 24 horas do tratamento, estas foram recolhidas e colocadas em Trizol para extração do RNA. No modelo *in vivo*, foram utilizadas camundongos fêmeas BALB/c, que receberam três injeções intraperitoneais de 1 mg/g de uretano em dias alternados, por uma semana, para indução dos tumores pulmonares. Após 20 semanas da primeira aplicação, um grupo foi tratado com 20 mg/kg e outro grupo com 40 mg/kg de SB200 por via intraperitoneal, 3 dias na semana por quatro semanas e um grupo controle recebeu 5 mg/kg de cisplatina, intraperitonealmente, 1 vez por semana por três semanas. Após o sacrifício, os pulmões foram colocados no RNAlater e armazenados. Após a extração do RNA, síntese de cDNA e análise da expressão gênica, foi possível observar que, na linhagem, o tratamento com SB200 induziu um aumento na expressão do gene Bax em comparação às células não tratadas (NT), com níveis similares ao controle com DMSO. A cisplatina apresentou alta expressão de Bax. Para o gene Bcl-2, observou-se redução na expressão após o tratamento com SB200 e cisplatina em comparação aos controles NT e DMSO. No modelo *in vivo*, o SB200 promoveu aumento dose-dependente na expressão do Bax, superando o controle PBS e o uretano. A cisplatina também elevou o Bax de forma significativa. No gene Bcl-2, o uretano causou uma elevação em relação ao PBS e à dose de 20 mg/kg de SB200. A dose mais alta de SB200 e a cisplatina induziram aumento paradoxal de Bcl-2 possivelmente por um mecanismo compensatório das células tumorais. Com isso, esses resultados demonstram que o SB200 possui efeito pró-apoptótico, aumentando Bax e reduzindo Bcl-2 *in vitro*, enquanto *in vivo* induz resposta dose-dependente em Bax, com potencial mecanismo compensatório em Bcl-2 em altas doses. Esses achados destacam seu potencial como candidato terapêutico no CP, embora estudos adicionais sejam necessários para entender a complexidade desse mecanismo e explorar sua eficácia.

Palavras-chave: Neoplasia Pulmonar. Tratamento. Tiofeno. Apoptose. Uretano.

SILVA, Julia Oliveira Ribeiro da. **Evaluation of the mechanism of action of the SB200 derivative on apoptotic pathways using experimental lung cancer models**. 2025. 53 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

ABSTRACT

Lung cancer (LC) is the leading cause of death worldwide, with smoking being its main risk factor. Treatment presents many challenges, such as chemotherapy resistance and high toxicity. In this context, it is necessary to study molecules, such as thiophene derivatives, for their antitumor activities. This study aimed to understand the mechanism of action related to the apoptotic pathways of the derivative SB200 in LC, by analyzing the expression of the Bax (pro-apoptotic) and Bcl-2 (anti-apoptotic) genes in *in vitro* and *in vivo* models. For the *in vitro* assays, the NCI-H1299 cell line was seeded in plates at a density of $5x10^4$ cells/well and exposed to the IC_{50} concentration of 25.87 µM of SB200. After 24 hours of treatment, the cells were collected and placed in Trizol for RNA extraction. In the *in vivo* model, female BALB/c mice were used. They received three intraperitoneal injections of 1 mg/g of urethane on alternate days over one week to induce lung tumors. After 20 weeks from the first application, one group was treated with 20 mg/kg and another group with 40 mg/kg of SB200 intraperitoneally, 3 days a week for four weeks; a control group received 5 mg/kg of cisplatin intraperitoneally, once a week for three weeks. After sacrifice, the lungs were placed in RNAlater and stored. After RNA extraction, cDNA synthesis, and gene expression analysis, it was observed that in the cell line, treatment with SB200 induced an increase in the expression of the Bax gene compared to untreated (UT) cells, with levels similar to the DMSO control. Cisplatin showed high Bax expression. For the Bcl-2 gene, a reduction in expression was observed after treatment with SB200 and cisplatin compared to the UT and DMSO controls. In the *in vivo* model, SB200 promoted a dose-dependent increase in Bax expression, surpassing the PBS and urethane controls. Cisplatin also significantly elevated Bax. For the Bcl-2 gene, urethane caused an increase compared to PBS and the 20 mg/kg dose of SB200. The higher dose of SB200 and cisplatin induced a paradoxical increase in Bcl-2, possibly due to a compensatory mechanism by the tumor cells. Thus, these results demonstrate that SB200 has a pro-apoptotic effect, increasing Bax and reducing Bcl-2 *in vitro*, while *in vivo* it induces a dose-dependent response in Bax, with a potential compensatory mechanism for Bcl-2 at high doses. These findings highlight its potential as a therapeutic candidate in LC, although additional studies are necessary to understand the complexity of this mechanism and explore its efficacy.

Key words: Pulmonary Neoplasia. Treatment. Thiophene. Apoptosis. Urethane.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquema das vias de sinalização apoptótica mitocondrial e mediada por receptores de morte, destacando os principais componentes regulados pela família Bcl-2. 30
Figura 2 – Esquema do modelo de indução química com uretano. 37
Figura 3 – Esquema com a subdivisão do grupo tratamento. 38
Figura 4 – Imagem ilustrativa da estrutura química do derivado tiofênico SB200. 39
Gráficos 1A e 1B – Expressão dos genes pró-apoptótico Bax e anti-apoptótico Bcl-2 em linhagem de neoplasia pulmonar. 42
Gráficos 2A e 2B – Modulação da expressão dos genes pró-apoptótico Bax e anti- apoptótico Bcl-2 em modelo *in vivo* de CP. 43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais mutações condutoras e prevalência em CPCNP. 20

Tabela 2 – Marcadores imunohistoquímicos utilizados para o diagnóstico diferencial dos subtipos histológicos de CPCNP e CPPC. 24

Tabela 3 – Efeitos adversos relacionados aos principais fármacos utilizados no tratamento do CP. 28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CP	Câncer de Pulmão
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
CPPC	Câncer de Pulmão de Pequenas Células
CPCNP	Câncer de Pulmão de Células Não Pequenas
p53	Fosfoproteína com Peso Molecular de 53 kDa
Bcl-2	Linfoma de Células B 2
Bcl-xL	Proteína Extragrande Associada a Bcl-2
Bax	Proteína X Associada a Bcl-2
Bad	Promotora de Morte Associada a Bcl-2
KRAS	Oncogene Homólogo do Vírus Kirsten do Sarcoma de Rato
EGFR	Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico
ALK	Quinase de Linfoma Anaplásico
ROS1	Proto-oncogene 1, Receptor de Tirosina Quinase
RET	Rearranjado Durante a Transfecção
MET	Proto-oncogene MET, Receptor de Hepatócito
HER2	Receptor 2 do Fator de Crescimento Epidérmico Humano
TTF-1	Fator de Transcrição Tireoidiano 1
p40	Proteína Tumoral 40
p63	Proteína Tumoral 63
CD56	Agrupamento de Diferenciação 56
PD-L1	Ligante de Morte Programada 1
PD-1	Receptor de Morte Programada 1
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
TNFR	Receptor do Fator de Necrose Tumoral
AIF	Fator de Indução de Apoptose
BH3	Domínio 3 Homólogo a Bcl-2
Bak	Antagonista Homóloga a Bcl-2
FADD	Domínio de Morte Associado a Fas
TRADD	Domínio de Morte Associado ao Receptor de TNF
SMAC	Segundo Ativador de Caspases Derivado da Mitocôndria
APAF1	Fator de Ativação de Proteases Apoptóticas 1
XIAP	Proteína Inibidora de Apoptose Ligada ao Cromossomo X

cPARP	Poli-ADP Ribose Polimerase Clivada
RNA	Ácido Ribonucleico
Bim	Mediado de Morte Celular que Interage com Bcl-2
Bid	Agonista de Morte com Domínio que Interage com BH3
JAK-STAT	Janus Quinase-Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição
STAT3	Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição 3
STAT 5	Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição 5
PI3K	Fosfoinositídeo 3-quinase
Akt	Proteína Quinase B
pAkt	Akt Fosforilada

SUMÁRIO

1	**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**	18
1.1	Incidência do câncer no mundo	18
1.2	Câncer de pulmão	18
1.2.1	Epidemiologia	20
1.2.2	Classificação	21
1.2.3	Diagnóstico	23
1.2.4	Tratamento	24
1.3	Apoptose	29
1.3.1	Genes da Família Bcl-2	31
1.4	Tiofenos	32
2	**JUSTIFICATIVA**	34
3	**OBJETIVOS**	35
3.1	Objetivo geral	35
3.2	Objetivos específicos	35
4	**METODOLOGIA**	36
4.1	Cultura e manutenção da linhagem celular	36
4.2	Animais	36
4.3	Considerações éticas	36
4.4	Modelo de indução químico pela aplicação de uretano	36
4.5	Tratamento com o derivado sb200	37
4.5.1	Procedência do Composto	39
4.6	Extração do RNA e síntese do cDNA	39
4.7	Quantificação da expressão gênica	40
4.8	Análise estatística	41
5	**RESULTADOS E DISCUSSÃO**	42
6	**CONCLUSÃO**	46

REFERÊNCIAS 47

ANEXOS 52

ANEXO A – Cópia do parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE 53

1. INTRODUÇÃO

O câncer de pulmão (CP) é um dos mais incidentes, perdendo apenas para o câncer de pele, e o mais mortal em nível mundial. Acomete principalmente adultos de 40 a 80 anos, porém, também ocorre em indivíduos mais jovens, devido a erros no mecanismo de reparo do Ácido Desoxirribonucleico (DNA) e predisposição genética. No Brasil, é uma das principais causas de morte por câncer, sendo o terceiro mais comum em homens e o quarto em mulheres, cujo principal fator de risco é o tabagismo (Paschoal, 2023).

O CP é classificado em dois grandes grupos: o Câncer de Pulmão de Pequenas Células (CPPC), que representa cerca de 15% dos casos (Rudin *et al*., 2021), e o Câncer de Pulmão de Células Não Pequenas (CPCNP) que representa 85% dos casos, incluindo os subtipos, adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas e carcinoma de células grandes (Relli *et al*., 2019).

O diagnóstico do CPCNP no Brasil e outros países desenvolvidos, acontece em estágios avançados, aproximadamente 70% dos pacientes apresentam doença localmente avançada ou metastática. Entre os exames mais utilizados estão a radiografia de tórax, tomografia computadorizada e procedimentos mais invasivos, como biópsia transtorácica e broncoscopia (Araujo *et al*., 2018).

O tratamento atual para o CP no Brasil é através de cirurgia, mais utilizado em pacientes no estágio inicial da doença, radioterapia e quimioterapia, com quimioterápicos à base de platina, tendo a cisplatina como um dos principais (Araujo *et al*., 2018). O principal mecanismo de ação da cisplatina é agir diretamente no DNA, gerando ligações cruzadas e isto causa a inibição da transcrição, a perturbação no reparo e, posteriormente, a morte celular (Ghosh, 2019).

A cisplatina, mesmo sendo um dos quimioterápicos mais utilizados, acarreta inúmeros efeitos adversos no indivíduo. Além de ausência de especificidade, má absorção e quimiorresistência desenvolvida por alguns pacientes, devido ao aumento no reparo do DNA e mutações. Os efeitos tóxicos mais relevantes deste derivado de platina incluem nefrotoxicidade, ototoxicidade, hepatotoxicidade e toxicidade gastrointestinal (Ghosh, 2019).

Diante disso, os tiofenos são moléculas promissoras com atividades antitumoral, anticonvulsivante e anti-inflamatória (Rodrigues *et al*., 2018). Sua ação antineoplásica é exemplificada com o Tomudex®, um análogo de folato contendo

tiofeno em sua estrutura. Este fármaco atua por inibição seletiva da enzima timidilato sintase, induzindo fragmentação do DNA e morte celular, o que reforça o potencial terapêutico desse grupo (Oliveira *et al*., 2015).

ElBakary *et al*. (2022) demonstraram a capacidade de derivados tiofênicos em induzir apoptose por meio de mecanismos moleculares precisos, como clivagem genômica do DNA, ativação da proteína p53, que regula genes pró-apoptóticos nas vias intrínseca e extrínseca e a supressão de genes anti-apoptóticos. Essas evidências consolidam o potencial antitumoral dos tiofenos.

A apoptose é controlada pelo equilíbrio entre as proteínas da família Bcl-2. Estudos indicam que a suscetibilidade a quimioterápicos está relacionada com a modulação dos genes Bax, Bcl-2 e Bcl-xL. Bax, proteína pró-apoptótica, antagoniza Bcl-2/Bcl-xL (anti-apoptóticos) que inibem a liberação de citocromo c. Em casos de câncer, a superexpressão de Bcl-2/Bcl-xL está ligada à resistência terapêutica, tornando-se alvo para produção de novos compostos (Czabotar *et al*., 2014).

Os derivados tiofênicos demonstraram a capacidade de modular a via pró-apoptótica em câncer colorretal, reduzindo expressão de Bcl-2/Bcl-xL e ativando Bad, o que potencializou a eficácia da radioterapia pela ativação do processo de apoptose. Esse mecanismo pró-apoptótico pode ser explorado no CP, principalmente em neoplasias resistentes ao tratamento com cisplatina (Elbakary *et al*., 2022).

Neste contexto, o presente estudo visou avaliar a modulação de genes relacionados às vias apoptóticas pelo derivado tiofênico SB200, com foco no pró-apoptótico, Bax, e anti-apoptótico, Bcl-2. A escolha desses genes se baseou na evidência de que os derivados de tiofeno podem desregular a relação Bax/Bcl-2, favorecendo a indução da apoptose, como demonstrado anteriormente.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Incidência do câncer no mundo

O câncer é o principal problema de saúde pública no mundo, sendo uma das principais causas de morte, sendo a primeira ou a segunda causa de morte prematura, antes dos 70 anos, na maioria dos países (INCA, 2023). De forma geral, o risco de desenvolvimento de câncer antes dos 75 anos e de 20% para ambos os sexos, sendo 21,8% para o sexo masculino e 18,5% para o sexo feminino (GLOBOCAN, 2024).

Em 2022, foram registrados 19.976.499 novos casos de câncer no mundo, sendo 10.311.610 entre os homens e 9.664.889 entre as mulheres. Quanto à mortalidade, o número total foi de 9.743.832 mortes, com 5.430.284 mortes entre os homens e 4.313.548 entre as mulheres (GLOBOCAN, 2024).

Entre os cinco tipos de câncer mais frequentes no mundo para ambos os sexos estão o câncer de pulmão, câncer de mama, câncer colorretal, câncer de próstata e câncer de estômago. Estratificando por sexo, os mais frequentes em homens são câncer de pulmão, câncer de próstata, câncer coloretal, câncer de estômago e câncer de fígado, enquanto em mulheres são câncer de mama, câncer de pulmão, câncer coloretal, câncer de colo do útero e câncer de tireoide (GLOBOCAN, 2024).

Por fim, as principais causas de morte por câncer no mundo para ambos os sexos são por câncer de pulmão, câncer de mama e câncer colorretal. Subdividindo por sexo, em homens são câncer de pulmão, câncer de próstata e câncer colorretal, e em mulheres são câncer de mama, câncer de pulmão e câncer colorretal (INCA, 2023; GLOBOCAN, 2024).

1.2 Câncer de pulmão

“Câncer de pulmão” é o termo utilizado para caracterizar tumores malignos do epitélio respiratório. Essa malignidade acomete principalmente adultos com 50 anos ou mais, porém, pode ocorrer entre indivíduos mais jovens devido a erros no mecanismo de reparo de DNA e a predisposição genética. Seu principal fator de risco é o tabagismo, tanto para fumantes ativos, quanto para os passivos, e, mesmo

que nos passivos o risco seja menor, ainda é 30% maior quando comparado a quem nunca fumou e não está exposto (Paschoal, 2023).

Ademais, fatores genéticos e ambientais também estão relacionados ao risco para o desenvolvimento do CP (Araujo *et al*., 2018). Exposição ambiental e médica a radiação, exposição ocupacional ao formaldeído e ao asbesto, fatores imunológicos e predisposição genética são alguns entre os diversos fatores relacionados ao surgimento desta doença. Esses fatores associados ao tabagismo apresentam um efeito sinérgico multiplicador neste tipo de câncer (Paschoal, 2023).

Além dos fatores ambientais e comportamentais, o seu desenvolvimento está intimamente associado a mutações genéticas que alteram vias de proliferação e sobrevivência celular (Bade, Dela Cruz, 2020). Essas alterações genéticas adquiridas em alguns genes resultam no crescimento e capacidade de invasão do tumor. Estudos moleculares demonstram que os diferentes tipos e subtipos apresentam perfis mutacionais distintos (Zheng, 2016).

Em condições normais, os proto-oncogenes regulam processos essenciais como divisão e diferenciação celular; no entanto, quando sofrem mutações ativadoras, transformam-se em oncogenes e promovem a proliferação descontrolada característica dos cânceres (Zheng, 2016). Dentre as mutações mais relevantes, como pode ser observado na Tabela 1, destacam-se as que envolvem os oncogenes KRAS, EGFR e ALK, os quais, quando alterados, garantem vantagens proliferativas às células tumorais (Chevallier *et al*., 2021).

Mutações no Oncogene Homólogo do Vírus Kirsten do Sarcoma de Rato (KRAS) estão presentes em até 30% dos pacientes com CPCNP, sendo este o oncogene mais detectado (Reck *et al*., 2021). Dentre estas mutações, as mais comuns são G12C e G12D, as quais a G12C é encontrada em 13% dos casos de CPCNP e é detectada com mais frequência em fumantes, enquanto a G12D é mais comum entre não fumantes (Chevallier *et al*., 2021).

Outras mutações envolvem o oncogene do Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR), as quais a prevalência é de até 50% em pacientes asiáticos com adenocarcinoma e até 15% em pacientes ocidentais (Kobayashi, Mitsudomi, 2016). Além disso, rearranjos da Quinase de Linfoma Anaplásico (ALK) são detectados em até 5% dos casos de CPCNP avançado, enquanto as alterações são encontradas em 97% dos adenocarcinomas e 3% dos carcinomas de células escamosas (Chevallier *et al*., 2021).

Tabela 1 - Principais mutações condutoras e prevalência em CPCNP.

Gene afetado	Tipo de mutação	Prevalência	Principais grupos associados
EGFR	Mutação ativadora	15-50%	Não fumantes Pacientes com adenocarcinoma
KRAS (G12C)	Mutação ativadora	13%	Fumantes
KRAS (G12D)	Mutação ativadora	5-10%	Não fumantes
ALK	Rearranjo gênico	5%	Pacientes com adenocarcinoma
ROS1	Rearranjo gênico	1-2%	Não fumantes
RET	Rearranjo gênico	1-2%	Não fumantes Pacientes com adenocarcinoma
MET	Amplificação	2-5%	Pacientes com adenocarcinoma
HER2	Amplificação	1-3%	Não fumantes Pacientes com adenocarcinoma

Fonte: Autoria própria (2025).

1.2.1 Epidemiologia

As neoplasias de pulmão estão em segundo no número de incidência e são a principal causa de mortalidade por câncer no mundo. É o mais frequente em homens, ultrapassando os casos de próstata e o terceiro mais incidente em mulheres. No Brasil, entre o triênio 2023-2025, o CP assumiu o quinto lugar entre os cânceres mais incidentes, sendo o quarto mais frequente entre os homens e o quinto entre as mulheres (INCA, 2023).

Dessa forma, as maiores taxas de incidência para homens e mulheres são observadas na região Sul do país, podendo estar associada ao tabagismo histórico.

Em homens, é a segunda neoplasia mais frequente nas regiões Sul e Nordeste, enquanto no Sudeste, Centro-Oeste e Norte, está na terceira posição. Entre as mulheres, é o terceiro mais frequente no Sul, o quarto nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Norte, e ocupa a quinta posição no Nordeste (INCA, 2023).

Com isso, essas diferenças regionais no CP refletem fatores como a prevalência histórica do tabagismo, principalmente no Sul do país, e a desigualdade no acesso à saúde. No Brasil, o diagnóstico tardio, com apenas 16% dos casos detectados precocemente, contribui para um aumento no risco de morte desses pacientes (Araujo *et al*., 2018).

A estimativa de novos casos no Brasil para cada ano do triênio 2023-2025 foi de 32.560 casos, sendo 18.020 casos entre os homens e 14.540 casos entre as mulheres. A nível estadual estimou-se que em Pernambuco houve 24.590 novos casos de câncer em 2023, dos quais 1.320 casos eram de pulmão, subdivididos segundo sexo em 680 casos entre homens e 640 casos entre mulheres (INCA, 2023).

Em termos de mortalidade, é o mais letal do mundo, sendo responsável por cerca de 1.817.469 óbitos (GLOBOCAN, 2024). No Brasil, em 2020, foi responsável por cerca de 28.618 óbitos, entre os quais 16.009 óbitos foram de homens e 12.609 de mulheres. Isso representa um risco estimado de 15,46 mortes para cada 100 mil homens e de 11,65 para cada 100 mil mulheres (INCA, 2023).

1.2.2 Classificação

As neoplasias de pulmão podem ser classificadas em dois grupos principais: o CPPC, que é um carcinoma neuroendócrino caracterizado por tumores malignos de crescimento rápido, representando cerca de 15% dos casos, sendo o mais agressivo entre os dois (Rudin *et al*., 2021), e o CPCNP que representa 85% dos casos, incluindo adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas e carcinoma de células grandes (Relli *et al*., 2019).

O CPPC acomete principalmente fumantes e ex-fumantes e apresenta um pior prognóstico (Kim, Park, Chiang, 2025). Pacientes com esse tipo de neoplasia geralmente apresentam sintomas respiratórios, com uma massa pulmonar central e comprometimento dos linfonodos torácicos, que na maioria já apresenta doença metastática ao ser diagnosticada. Este tipo de neoplasia tende a apresentar

metástase em tecidos, como o cérebro, o fígado, as glândulas adrenais e os ossos (Rudin *et al*., 2021).

O CPCNP abrange os subtipos adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas e carcinoma de células grandes (Coudray *et al*., 2018). Entre eles, o adenocarcinoma e o carcinoma de células escamosas são os maiores subgrupos. O adenocarcinoma representa 40% de todos os casos de CP e é o principal subtipo entre indivíduos não fumantes e o carcinoma de células escamosas representa entre 25-30% dos casos e é mais associado ao tabagismo intenso (Relli *et al*., 2019).

O adenocarcinoma é o subtipo mais comum, representando 60% dos casos de CPCNP (Relli *et al*., 2019). Este tumor geralmente se apresenta como uma massa periférica com fibrose central e retração pleural, frequentemente associado a cicatrizes pulmonares pré-existentes. Na microscopia é definido como uma neoplasia epitelial maligna com diferenciação glandular, produção de muco e padrões de crescimento variados (Zheng, 2016).

O carcinoma de células escamosas geralmente ocorre na porção central do pulmão, ao longo das vias aéreas principais, podendo formar cavidades se atingirem grandes dimensões (Zheng, 2016). Na microscopia exibe queratinização e pontos intercelulares, com padrão de crescimento sólido (Coudray *et al*., 2018). É subclassificado em queratinizante, não queratinizante e basalóide, sendo este último de prognóstico distinto. O carcinoma de células escamosas apresenta sobrevida melhor que o adenocarcinoma (Zheng, 2016).

O carcinoma de células grandes representa a minoria dos casos de CPCNP (Relli *et al*., 2019). São tumores periféricos, volumosos e necróticos, compostos por células grandes e pleomórficas organizadas em padrão sólido. Sua classificação não pode ser dada apenas pela morfologia e seu prognóstico é geralmente o mais desfavorável entre os três subtipos (Zheng, 2016).

Com isso, para a diferenciação desses subtipos utiliza-se imunohistoquímica. O adenocarcinoma expressa marcadores pneumocíticos, como napsina A ou Fator de Transcrição Tireoidiano 1 (TTF-1), enquanto o carcinoma de células escamosas expressa marcadores de diferenciação escamosa, como p40, p63 e citoqueratinas 5/6 e, por fim, o carcinoma de células grandes têm fenótipo nulo, mas pode expressar citoqueratinas (Rodriguez-Canales, Parra-Cuentas, Wistuba, 2016; Rudin *et al*., 2021).

1.2.3 Diagnóstico

O CPPC é o mais agressivo, desta forma, seu diagnóstico deve ser realizado o mais brevemente possível (Rudin *et al*., 2021). Exames de imagem são os mais comumente realizados para determinação da extensão da doença, juntamente com a biópsia, obtida por broncoscopia com ultrassonografia endobrônquica. No entanto, o diagnóstico somente é confirmado através do exame histopatológico (Nooreeldeen, Bach, 2021).

Desse modo, a avaliação histológica pode ser complementada pela imunohistoquímica. Na microscopia, observa-se células pequenas com núcleos hipercromáticos, citoplasma escasso e alta atividade mitótica, podendo apresentar necrose extensa e artefatos de esmagamento, no caso de biópsias (Rudin *et al*., 2021).

A imunohistoquímica demonstra expressão de marcadores neuroendócrinos, como sinaptofisina, cromogranina e CD56, como demonstrado na Tabela 2. A sinaptofisina é positiva em 90% dos casos de CPPC, enquanto a cromogranina é positiva entre 40-60% e CD56 é positiva na maioria dos casos. Para avaliação do índice proliferativo, utiliza-se o marcador Ki67, que está geralmente elevado e também é utilizado para diferenciar este tipo de CP de outros tumores com baixa expressão (Rudin *et al*., 2021).

Por outro lado, o diagnóstico do CPCNP no Brasil, assim como em outros países desenvolvidos, geralmente é feito em estágios avançados e apresenta baixa sobrevida (Nooreeldeen, Bach, 2021). Este diagnóstico também é feito por radiografia de tórax, tomografia computadorizada, ultrassonografia endobrônquica e, em alguns casos, por procedimentos invasivos, como broncoscopia e biópsia transtorácica (Araujo *et al*., 2018).

Além disso, o diagnóstico dos subtipos de CPCNP é feito através da avaliação histopatológica. Porém, esta avaliação histológica pode ser limitada em casos de biópsias pequenas ou tumores indiferenciados. Nesses casos deve-se utilizar técnicas auxiliares, como a imunohistoquímica, a qual, entre os principais marcadores expressos destacam-se TTF-1 e p40 (Rodriguez-Canales, Parra-Cuentas, Wistuba, 2016).

O TTF-1 é uma proteína que regula a transcrição de genes específicos para a diferenciação da tireóide, do pulmão e do diencéfalo. É expresso em 60-70% dos

adenocarcinomas e entre 6-30% dos carcinomas de células escamosas, sendo um marcador que favorece o diagnóstico e está associado a um melhor prognóstico nos casos de adenocarcinomas (Rodriguez-Canales, Parra-Cuentas, Wistuba, 2016). Este marcador também é expresso em 80-90% dos casos de CPPC (Zheng, 2016).

Ademais, o p40 é uma isoforma da proteína p63 codificada pelo gene TP63, envolvida em funções durante o desenvolvimento da pele e a regulação de células-tronco adultas (Rodriguez-Canales, Parra-Cuentas, Wistuba, 2016). É utilizado como marcador de diferenciação escamosa, sendo positivo em aproximadamente 100% dos carcinomas de células escamosas e em até 3% dos adenocarcinomas. Em geral, é utilizado em combinação com o TTF-1 (Rudin *et al*., 2021).

Tabela 2 - Marcadores imunohistoquímicos utilizados para o diagnóstico diferencial dos subtipos histológicos de CPCNP e CPPC.

Subtipos histológicos	Marcadores imunohistoquímicos
Adenocarcinoma	TTF-1, napsina A e citoqueratina 7
Carcinoma de Células Escamosas	P40, P63 e citoqueratinas 5 e 6
Carcinoma de Células Grandes	Pode expressar citoqueratinas 5, 6 ou 7
Câncer de Pulmão de Pequenas Células	CD56, sinaptofisina, cromogranina A, TTF-1 e Ki-67

Fonte: Autoria própria (2025).

1.2.4 Tratamento

As diversas abordagens terapêuticas variam conforme o tipo histológico, perfil molecular do tumor e estadiamento da doença. Entre as principais opções estão a quimioterapia citotóxica (Ghosh, 2019), as terapias-alvo direcionadas a mutações específicas e a imunoterapia, que modula a resposta imune contra as células

neoplásicas. A escolha do tipo de tratamento depende de diversos fatores, como disponibilidade de recursos, perfil molecular do tumor e condições clínicas do paciente (Shields, Marin-Acevedo, Pellini, 2021).

Os agentes quimioterápicos como a cisplatina, o mais utilizado no CP, tem como mecanismo a ação direta na molécula de DNA, interagindo com o mesmo para gerar ligações cruzadas e causar inibição da transcrição, perturbação no mecanismo de reparo e, posteriormente, morte celular. No entanto, afetam também as células saudáveis, o que justifica sua intensa toxicidade sistêmica (Ghosh, 2019).

As terapias-alvo no CPCNP atuam sobre mutações condutoras específicas, como mutações em EGFR ou rearranjos de ALK (Tan, Tan, 2022). Por exemplo, inibidores de EGFR, como osimertinibe, se ligam ao domínio quinase do receptor, bloqueando a sinalização que promove a sobrevivência celular. Por outro lado, os inibidores de ALK, como crizotinibe, impedem a dimerização e ativação irregular dessa quinase. Dessa forma, a eficácia do tratamento depende da presença dessas alterações (Chevallier *et al*., 2021).

Por fim, a imunoterapia envolve medicamentos que atuam no sistema imunológico para induzir a apoptose das células neoplásicas (Ruiz-Cordero, Devine, 2020). Os inibidores de *checkpoint* imunológico atuam bloqueando as proteínas que impedem o ataque das células imunológicas, restaurando a vigilância do sistema imune e estimulando os linfócitos T citotóxicos a induzir a morte das células cancerígenas (Shields, Marin-Acevedo, Pellini, 2021).

No Brasil, o tratamento do CP baseava-se em cirurgia e quimioterapia com derivados de platina. No CPPC, a quimioterapia era a principal opção, enquanto no CPCNP, a cirurgia era a primeira opção e, em seguida, a quimioterapia adjuvante (Araujo *et al*., 2018). Entretanto, a incorporação de imunoterápicos e terapias-alvo modificou esse cenário, ainda que barreiras econômicas restrinjam seu acesso em todo território nacional (Veiga *et al*. 2023; Mathias *et al*., 2020).

Dessa forma, as opções de tratamento para o CPCNP no Brasil variam de acordo com o local de acompanhamento do paciente (Araujo *et al*., 2018). No setor privado, a primeira linha envolve imunoterapia ou combinação de quimioterapia e imunoterapia, a segunda linha apresenta outros quimioterápicos e a terceira linha inclui terapias-alvo e quimioterapia. Ademais, no setor público, a primeira linha envolve quimioterapia com dupla de platina e as segunda e terceira linhas incluem cuidados paliativos ou quimioterapia (Mathias *et al*., 2020).

Em escala global, os protocolos de tratamento para CP incluem os quimioterápicos tradicionais, como cisplatina, carboplatina, paclitaxel, gemcitabina e pemetrexede, as terapias-alvo para mutações específicas, como osimertinibe (inibidor de EGFR), crizotinibe (inibidor de ALK e ROS1) e sotorasibe (inibidor de KRAS) e os imunoterápicos, incluindo pembrolizumabe, nivolumabe, durvalumabe e atezolizumabe (inibidores de PD-1 e PD-L1) (Shields, Marin-Acevedo, Pellini, 2021; Chevallier *et al*., 2021).

Apesar dos avanços representados pelos protocolos globais, a implementação dessas terapias enfrenta obstáculos, especialmente em cenários de recursos limitados e diversos mecanismos de resistência (Mathias *et al*., 2020). A quimiorresistência à cisplatina, por exemplo, ocorre principalmente em decorrência do aumento no reparo do DNA e mutações que acarretam alterações em diferentes proteínas que fazem parte da sinalização da apoptose (Ghosh, 2019).

Portanto, a resistência à cisplatina pode ocorrer em diferentes etapas farmacocinéticas do tratamento, como durante a circulação do fármaco pela corrente sanguínea, durante o seu transporte pela membrana celular (influxo/efluxo), por sua presença no citoplasma ou sua ligação a molécula de DNA. Essa multifatorialidade contribui para a alta resistência observada no CPCNP, contrastando com a sensibilidade do CPPC (Ghosh, 2019).

Ademais, no CPCNP, mutações oncogênicas dinâmicas, como em EGFR e KRAS, podem promover resistência adaptativa, não apenas à quimioterapia, mas também a inibidores moleculares (Tan, Tan, 2022). Essa resistência a terapias-alvo ocorre através de mecanismos como ativação de vias alternativas ou obtenção de mutações secundárias (Chevallier *et al*., 2021).

Essa plasticidade genômica observada no CPCNP se manifesta de maneira concreta através de mecanismos de resistência específicos para cada classe de terapia-alvo (Chevallier *et al*., 2021). Por exemplo, no caso de tumores tratados com osimertinibe, mutações secundárias no gene EGFR ou a ativação compensatória de vias paralelas surgem como respostas adaptativas (Tan, Tan, 2022).

Por outro lado, com os inibidores de ALK, como o criozitinibe, surgem variantes de resistência que vão desde mutações no domínio quinase até a amplificação do próprio gene (Tan, Tan, 2022). Esses padrões evidenciam a complexidade do desenvolvimento tumoral sob a pressão dos tratamentos e também desafiam a eficácia terapêutica a longo prazo (Chevallier *et al*., 2021).

Além desses mecanismos de resistência, os efeitos adversos associados às terapias para o CP representam um desafio clínico significativo, que impacta desde a adesão ao tratamento até a qualidade de vida desses pacientes (Ghosh, 2019). Enquanto os quimioterápicos estão ligados a toxicidades sistêmicas, inibidores de mutações oncogênicas frequentemente causam rash cutâneo e diarreia (Chevallier *et al*., 2021).

A cisplatina, que ainda continua a ser amplamente utilizada, é relacionada a diversos efeitos adversos, incluindo nefrotoxicidade, neurotoxicidade, toxicidade gastrointestinal e mielossupressão, causados principalmente pela farmacocinética do fármaco e pela produção excessiva de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) (Ghosh, 2019). O manejo desses efeitos tóxicos necessita de diversas estratégias, especialmente onde os recursos de suporte são escassos (SBOC, 2024).

Por outro lado, os inibidores de mutações, como EGFR, ALK, PD-1 e PD-L1, apresentam diferentes perfis de efeitos colaterais, como rash cutâneo, diarreia e alterações hepáticas que afetam a qualidade de vida dos pacientes (Chevallier *et al*., 2021; Tan, Tan, 2022). Apesar disso, sua toxicidade sistêmica tende a ser menor em comparação com a quimioterapia convencional, o que reforça sua posição de preferência em pacientes com tumores geneticamente mutados (SBOC, 2024).

As imunoterapias, apesar de serem inovadoras, trouxeram à tona um novo conjunto de toxicidades autoimunes, como pneumonite e colite, sendo que a detecção precoce desses problemas é fundamental para evitar complicações mais sérias (Shields, Marin-Acevedo, Pellini, 2021). No Brasil, a falta de familiaridade com alguns desses efeitos, que muitas vezes se assemelha a comorbidades já existentes, pode atrasar o tratamento adequado (SBOC, 2024).

Esses efeitos tóxicos exigem abordagens multidisciplinares diferenciadas. Enquanto a nefrotoxicidade da cisplatina necessita de protocolos de hidratação e monitoramento de eletrólitos, os efeitos imunológicos exigem acompanhamentos com profissionais qualificados para distinguir entre progressão tumoral e ação terapêutica (Mathias *et al*., 2020; SBOC, 2024). Essa complexidade impacta diretamente o paciente, principalmente em situações em que o acesso a especialistas e exames complementares é desigual (Araujo *et al*., 2018).

Esses perfis de toxicidade, combinados com os mecanismos de resistência mencionados anteriormente, evidenciam a necessidade de algumas abordagens individualizadas e de um monitoramento rigoroso dos pacientes. A Tabela 3

apresenta um resumo dos efeitos adversos mais frequentes das principais escolhas terapêuticas, de acordo com estudos clínicos e diretrizes (Ghosh, 2019; Shields, Marin-Acevedo, Pellini, 2021; Chevallier *et al*., 2021; SBOC, 2024).

Tabela 3 - Efeitos adversos relacionados aos principais fármacos utilizados no tratamento do CP.

Fármaco	Classe	Efeitos Adversos
Cisplatina	Agente alquilante	Nefrotoxicidade, ototoxicidade, hepatotoxicidade, neurotoxicidade, toxicidades gastrointestinal, cardiovascular e ocular e mielossupressão
Carboplatina	Agente alquilante	Náusea, vômito, fadiga, mielossupressão, anemia, neutropenia e trombocitopenia, e neuropatia periférica
Paclitaxel	Taxano	Alopecia, neuropatia periférica, mielossupressão, artralgia, mialgia e hipersensibilidade
Pemetrexede	Antimetabólito	Fadiga, rash cutâneo, mucosite, anorexia e elevação das enzimas hepáticas, TGO e TGP
Osimertinibe	Inibidor de EGFR	Diarreia, rash cutâneo, prurido, dor musculoesquelética e prolongamento do intervalo QT
Crizotinibe	Inibidor de ALK e ROS1	Náuseas, diarreia, neutropenia, anemia, fadiga, edema em pernas, perda de apetite e aumento de enzimas hepáticas, TGO e TGP
Nivolumabe	Anti-PD-1	Fadiga, rash, prurido, diarreia, hipotireoidismo ou hipertireoidismo
Pembrolizumabe	Anti-PD-1	Fadiga, náusea, artralgia, prurido, tireoidite, pneumonite e colite
Atezolizumabe	Anti-PD-L1	Fadiga, náusea, perda de apetite e rash cutâneo
Durvalumabe	Anti-PD-L1	Tosse, fadiga, dispneia e rash cutâneo

Fonte: Autoria própria (2025).

1.3 Apoptose

A morte celular programada é um aspecto fundamental na regulação da homeostase tecidual e no equilíbrio da proliferação celular (Vogler *et al*., 2025). Sendo um processo fisiológico, a apoptose remove células previamente selecionadas por estarem danificadas, sob estresse ou durante o desenvolvimento celular normal e a morfogênese. Sua desregulação pode levar a patologias associadas ao aumento da massa celular ou perda tecidual (Qian *et al*., 2022).

A apoptose pode ser ativada por duas vias principais: a via intrínseca ou via mitocondrial, na qual genes reguladores são ativados como resposta a sinais intracelulares fisiológicos ou patológicos, e a via extrínseca ou via dos receptores de morte, a qual é iniciada por ligantes extracelulares. Ambas as vias necessitam da ativação das caspases para executar o mecanismo de morte celular (Tudor *et al*., 2000; Vogler *et al*., 2025; Qian *et al*., 2022).

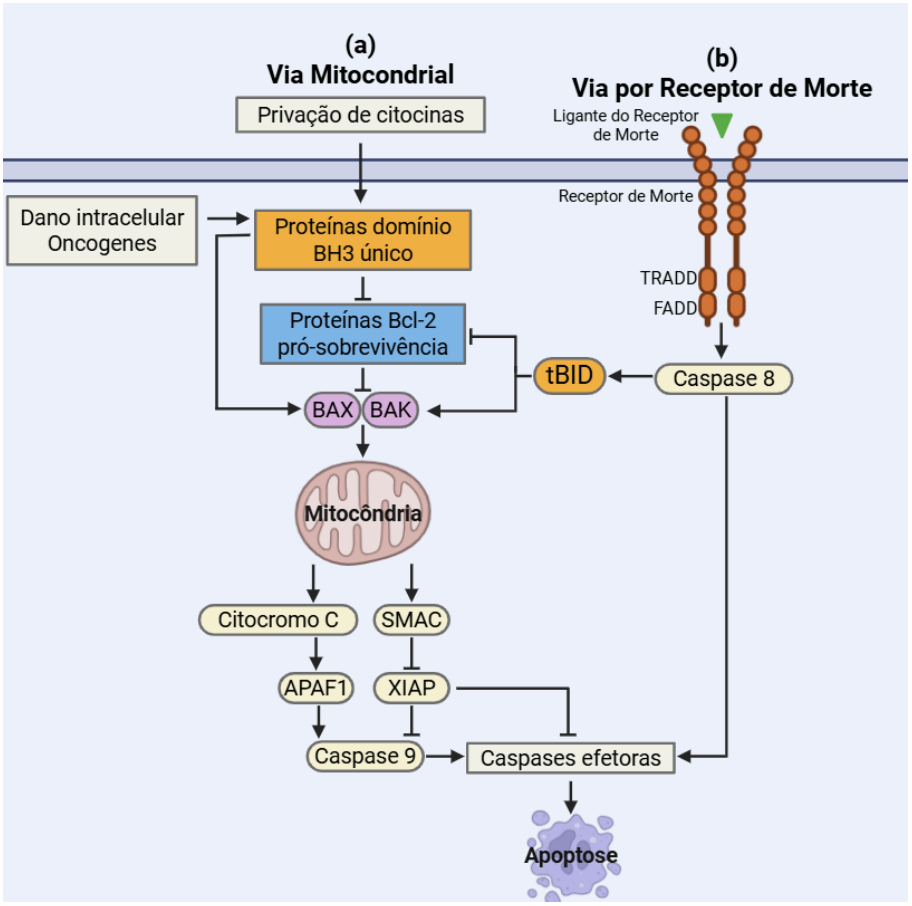
A via intrínseca da apoptose é regulada pela família Bcl-2, que inclui membros pró e anti-apoptóticos interagindo entre si para controlar a liberação de citocromo c e outras proteínas da mitocôndria para o citosol. Quando estimuladas, essas proteínas desencadeiam a liberação de citocromo c da mitocôndria para o citosol. O citocromo c forma o apoptossomo, ativando a caspase 9, que inicia a cascata de caspases efetoras, resultando na morte celular (Vogler *et al*., 2025; Czabotar *et al*., 2014).

Por outro lado, a via extrínseca, mediada por receptores de morte, é iniciada quando alguns membros da família de Receptores do Fator de Necrose Tumoral (TNFR) são ligados na membrana plasmática, levando a ativação da caspase 8 e das caspases efetoras, também resultando em morte celular. Diferentemente da via intrínseca, esta via é desencadeada por sinais extracelulares. Ambas as vias, mesmo iniciadas por estímulos diferentes, convergem para a ativação das caspases efetoras (Czabotar *et al*., 2014; Qian *et al*., 2022).

No entanto, o evento central da via intrínseca, a permeabilização da membrana mitocondrial externa, constitui um ponto sem retorno que pode levar à morte celular mesmo na ausência de caspases efetoras. Como revisado por Vogler *et al*. (2025) e Qian *et al*. (2022), essa permeabilização da membrana resulta na liberação de fatores como o Fator de Indução de Apoptose (AIF) e a Endonuclease G, que migram para o núcleo e medeiam a fragmentação do DNA independente das caspases, além de causar um colapso bioenergético irreversível.

A Figura 1 ilustra de forma esquemática os principais mecanismos moleculares: a via mitocondrial ativada por estresse intracelular, como dano ao DNA e oncogenes, envolvendo proteínas de domínio BH3, Bax/Bak e liberação de citocromo c e a via dos receptores de morte, iniciada por ligantes extracelulares, com ativação de caspase 8 via domínios FADD/TRADD. Ambas as vias convergem classicamente na ativação de caspases efetoras, resultando na morte celular programada (Czabotar *et al*., 2014).

Figura 1 - Esquema das vias de sinalização apoptótica mitocondrial e mediada por receptores de morte, destacando os principais componentes regulados pela família Bcl-2.



Legenda: **(a) Via mitocondrial:** ativada por estresse intracelular, como danos ao DNA e oncogenes, envolvendo proteínas BH3, Bax/BAK e liberação de citocromo C. **(b) Via dos receptores de morte:** iniciada por ligantes extracelulares com ativação de caspase 8 via domínios FADD/TRADD.

Fonte: Adaptado de Czabotar *et al*. (2014, p. 2).

1.3.1 Genes da Família Bcl-2

A família Bcl-2 é classificada em três grupos funcionais: anti-apoptóticas multi-domínio (como Bcl-2 e Bcl-xL), pró-apoptóticas multi-domínio (Bax e Bak) e pró-apoptóticas de domínio BH3 único (Bad e Bim) (Vogler *et al*., 2025). O equilíbrio entre os membros dessa família determina a sobrevivência ou morte celular e essa regulação ocorre principalmente na membrana mitocondrial (Tudor *et al*., 2000).

As proteínas Bcl-2 e Bcl-xL localizam-se na membrana mitocondrial externa, inibindo a apoptose ao bloquear a perda de potencial de membrana, a liberação de citocromo c e a ativação das caspases. A superexpressão de Bcl-xL, em especial, está fortemente associada à resistência apoptótica em células neoplásicas, conferindo esta vantagem de sobrevivência às mesmas (Tudor *et al*., 2000; Qian *et al*., 2022).

Bax, quando ativado, forma poros ao longo da mitocôndria, que induzem a liberação de citocromo c e desestabilizam a membrana. Sua atividade é modulada por interações competitivas com Bcl-2, na qual a alta razão Bcl-2/Bax favorece a sobrevivência das células. Em condições normais, Bax permanece no citosol em forma inativa, translocando-se para a mitocôndria apenas após estímulos apoptóticos (Tudor *et al*., 2000; Qian *et al*., 2022).

As proteínas de domínio BH3 único, como Bad, promovem a apoptose por alguns mecanismos, como neutralização das proteínas anti-apoptóticas (Bcl-2/ Bcl-xL) e ativação de Bax/Bak. Bad fosforilado se liga a proteínas citosólicas, enquanto sua forma não fosforilada se associa a Bcl-xL na mitocôndria, liberando Bax (Tudor *et al*., 2000; Vogler *et al*., 2025;).

A regulação pós-traducional dessas proteínas funciona através das caspases efetoras, principalmente a caspase 3, que cliva Bcl-2, gerando um fragmento pró-apoptótico, e das quinases, que fosforilam Bad, inibindo sua função. Outras modificações pós-traducionais, como a ubiquitinação e a acetilação, também contribuem para o controle preciso da atividade dessas proteínas. Esses mecanismos refinam a resposta apoptótica conforme os estímulos celulares (Qian *et al*., 2022; Tudor *et al*., 2000).

Por fim, a família Bcl-2 integra sinais de estresse para decidir o destino das células. Desequilíbrios nessa cascata estão ligados a câncer e doenças degenerativas, tornando-a alvo prioritário para terapias. A compreensão detalhada

desses mecanismos tem permitido o desenvolvimento de fármacos que modulam seletivamente a atividade dessas proteínas (Vogler *et al*., 2025; Czabotar *et al*., 2014).

1.4 Tiofenos

Os tiofenos são compostos heterocíclicos aromáticos contendo um anel de cinco membros com um átomo de enxofre, amplamente estudados na química medicinal devido às suas diversas ações farmacológicas. Seus derivados exibem atividades anti-inflamatórias, antineoplásicas, anticonvulsivantes, antiarrítmicas e antiparasitárias (Rodrigues *et al*., 2018; Swain *et al*., 2023).

O mecanismo de ação dos tiofenos envolve frequentemente a interação com o DNA e a inibição de enzimas essenciais para a proliferação celular. Estudos *in vitro* demonstram que derivados como o SB-83 (Rodrigues *et al*., 2018) e as tiofeno-tiossemicarbazonas (Oliveira *et al*., 2015) atuam inibindo a ribonucleotídeo redutase e a topoisomerase II, respectivamente.

Esses mecanismos de inibição observados em modelos celulares não apenas bloqueiam a síntese de nucleotídeos, mas também causam danos ao DNA, resultando em parada do ciclo celular e indução de apoptose. Além disso, esses estudos destacam que alguns compostos apresentam efeitos imunomoduladores e baixa citotoxicidade em células saudáveis, destacando seu potencial terapêutico seletivo (Rodrigues *et al*., 2018; Oliveira *et al*., 2015).

Juntamente a esses mecanismos gerais, derivados de tiofenos têm ganhado destaque em aplicações específicas. No tratamento da leishmaniose, o SB-83 demonstrou reduzir a carga parasitária em macrófagos infectados por *Leishmania amazonensis* (Rodrigues *et al*., 2018). Por outro lado, na área oncológica as tiofeno-tiossemicarbazonas estudadas por Oliveira *et al*. (2025) mostraram atividade antiproliferativa em linhagens de câncer renal, induzindo apoptose via inibição da topoisomerase II.

Em leucemias, o derivado de tiofeno F8 demonstrou citotoxicidade seletiva contra células de leucemia linfoblástica aguda, induzindo apoptose através da via intrínseca. Esse efeito confirma o potencial dos tiofenos em neoplasias hematológicas, ampliando sua ação para além de tumores sólidos (Swain *et al*., 2023). Outrossim, a baixa toxicidade em células saudáveis reforça o perfil vantajoso

dessa classe (Rodrigues *et al*., 2018).

Além disso, estudo de Da Silva *et al*. (2023) demonstrou, em linhagens de câncer de próstata (DU-145 e PC-3), que o SB200 induziu a apoptose das células DU-145 de maneira dependente do tempo de tratamento, por ensaio de marcação com anexina V e iodeto de propídeo. Os autores também observaram que o tratamento com o SB200 resultou no aumento de expressão de cPARP, um substrato celular conhecido das caspases, cuja clivagem é reconhecida como uma característica distintiva da apoptose.

Esses derivados de tiofenos demonstram mecanismos distintos de indução de apoptose. O SB-83 atua principalmente em protozoários, onde inibe a tripanotiona redutase, levando à externalização de fosfatidilserina e fragmentação do DNA (Rodrigues *et al*., 2018). Por outro lado, as tiofeno-tiossemicarbazonas causam quebras de DNA de fita dupla através da inibição da topoisomerase II (Oliveira *et al*., 2015).

Em contraste, o composto F8 age desencadeando a via apoptótica intrínseca por desestabilização da mitocôndria e ativação de caspase 9. Essa diversidade de mecanismos, desde o dano direto ao DNA até alterações mitocondriais, evidencia como as modificações estruturais nesses derivados tiofênicos podem direcionar sua seletividade e eficácia contra diferentes patologias (Swain *et al*., 2023).

Entretanto, esses estudos destacam algumas limitações relacionadas aos derivados. Oliveira *et al*. (2015) observaram que os derivados de tiofeno-tiossemicarbazona necessitam de ajustes estruturais para aprimorar sua solubilidade, enquanto Swain *et al*. (2023) ressaltam que o F8 foi testado apenas em linhagem celular específica, necessitando validação em outros modelos. Rodrigues *et al.* (2018) apontam que o SB-83 ainda não foi avaliado em modelos animais.

Os derivados tiofênicos se destacam como compostos notáveis, com eficácia comprovada em diversas aplicações terapêuticas, desde doenças parasitárias (Rodrigues *et al*., 2018) até neoplasias sólidas (Elbakary *et al.*, 2022) e hematológicas (Algharib *et al*., 2022; Swain *et al*., 2023). Embora desafios como validação em modelos complexos (Swain *et al*., 2023) e otimização de propriedades físico-químicas (Oliveira *et al*., 2015) persistam, os avanços posicionam esses compostos como candidatos ideais para o desenvolvimento de terapias combinatórias ou adjuvantes.

2. JUSTIFICATIVA

O presente trabalho aborda uma questão essencial no tratamento do câncer de pulmão, um dos tipos mais comuns e letais no mundo, principalmente ligado ao tabagismo e ao diagnóstico tardio. A resistência à morte celular programada é uma das principais características das células tumorais, e a modulação de genes apoptóticos está entre os principais mecanismos de ação dos quimioterápicos. Neste sentido, a investigação de um novo composto e sua ação na expressão de genes ligados à via apoptótica pode revelar mecanismos promissores para o desenvolvimento de novos tratamentos.

A importância do trabalho reside em sua abordagem, que não só avalia um novo composto terapêutico, o derivado tiofênico, mas também busca entender os mecanismos desta substância em combate ao câncer de pulmão em modelos experimentais. Dessa forma, diminuir os efeitos colaterais dos tratamentos atuais, como os derivados de platina, conhecidos por sua alta toxicidade sistêmica, é um ponto crucial para o avanço no tratamento do câncer de pulmão.

Por fim, ao explorar novas substâncias terapêuticas que possam substituir ou complementar os tratamentos atuais, é necessário encontrar terapias mais precisas e menos prejudiciais, melhorando a qualidade de vida dos pacientes. Assim, essas descobertas têm o potencial de impactar positivamente a saúde pública, oferecendo novas opções de tratamento para uma das principais causas de mortalidade por câncer.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Investigar se o derivado tiofênico SB200 modula a expressão dos genes da via apoptótica em câncer de pulmão tanto *in vitro* como *in vivo*.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a expressão dos genes Bax e Bcl-2 em linhagem de neoplasia pulmonar tratada com SB200 *in vitro*;
- Avaliar a modulação dos genes Bax e Bcl-2 após o tratamento com SB200 em modelo *in vivo* de câncer de pulmão induzido por uretano.

4. METODOLOGIA

4.1 Cultura e manutenção da linhagem celular

A linhagem celular foi fornecida do banco de células do Rio de Janeiro (BCRJ) e cultivada no Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica - Suely Galdino (NUPIT-SG), sendo ela: NCI-H1299, de carcinoma de células não pequenas.

As células NCI-H1299 foram cultivadas em meio RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute), contendo 2 mM de L-glutamina, 10 mM de HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid), 1 mM de piruvato de sódio, 1.500 mg/L de bicarbonato de sódio, 1% de penicilina/estreptomicina 200 U/mL e suplementados com 10% de soro fetal bovino.

A linhagem foi mantida em estufa com atmosfera de 5% de CO_2 e temperatura de 37°C. A troca do meio foi realizada sempre que houve necessidade de renovação dos nutrientes necessários para o crescimento celular.

4.2 Animais

Foram utilizados 23 camundongos fêmeas da linhagem BALB/c com 6 a 8 semanas de idade e peso médio de 20 gramas. Os animais foram obtidos e criados no biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia do Centro de Biociências da UFPE, com livre acesso à dieta e à água, e foram mantidos em gaiolas ventiladas com ciclo dia-noite de 12 horas em gaiolas forradas com serragem.

4.3 Considerações éticas

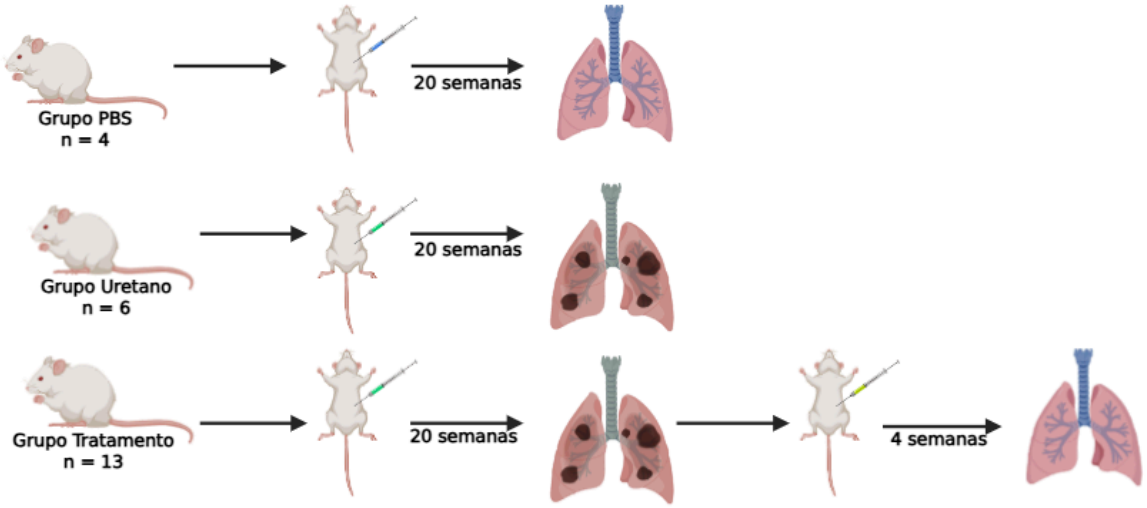
O presente trabalho de pesquisa foi submetido e aceito pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE de acordo com a regulamentação do CONCEA-MCTI, com protocolo de número 0058/2024.

4.4 Modelo de indução química pela aplicação de uretano

Um grupo experimental de 19 camundongos fêmeas BALB/c recebeu três injeções intraperitoneais com 1 mg/g de uretano em uma semana, 3 dias na semana

com intervalo de um dia entre cada aplicação, conforme estudo conduzido por Sozio *et al.* (2021) e 4 animais receberam a mesma dose de PBS, como grupo controle negativo. O tempo para a formação dos nódulos tumorais foi de 20 semanas, ao final desse período, os animais começaram o tratamento com o composto SB200. A Figura 2 apresenta de maneira esquemática a metodologia descrita acima.

Figura 2 – Esquema do modelo de indução química com uretano.



Legenda: A indução com 1 mg/g de uretano foi feita na 1° semana, com 3 aplicações intraperitoneais. Após o acompanhamento por 20 semanas a partir da 1° aplicação, os nódulos estavam formados.

Fonte: Autoria própria (2025).

4.5 Tratamento com o derivado SB200

No ensaio *in vitro*, a linhagem NCI-H1299 foi plaqueada em placas de 12 poços, com densidade de $5x10^4$ células/poço. Ao atingir uma confluência de 70-80%, foi tratada com a dose de IC_{50} de 25,87 µM do derivado SB200, dose previamente avaliada pelo grupo de pesquisa vinculado ao NUPIT-SG. Após 24 horas, as células foram recolhidas e colocadas em Trizol Reagent® (Thermo Fisher Scientific) para extração do RNA e realização da PCR em tempo real.

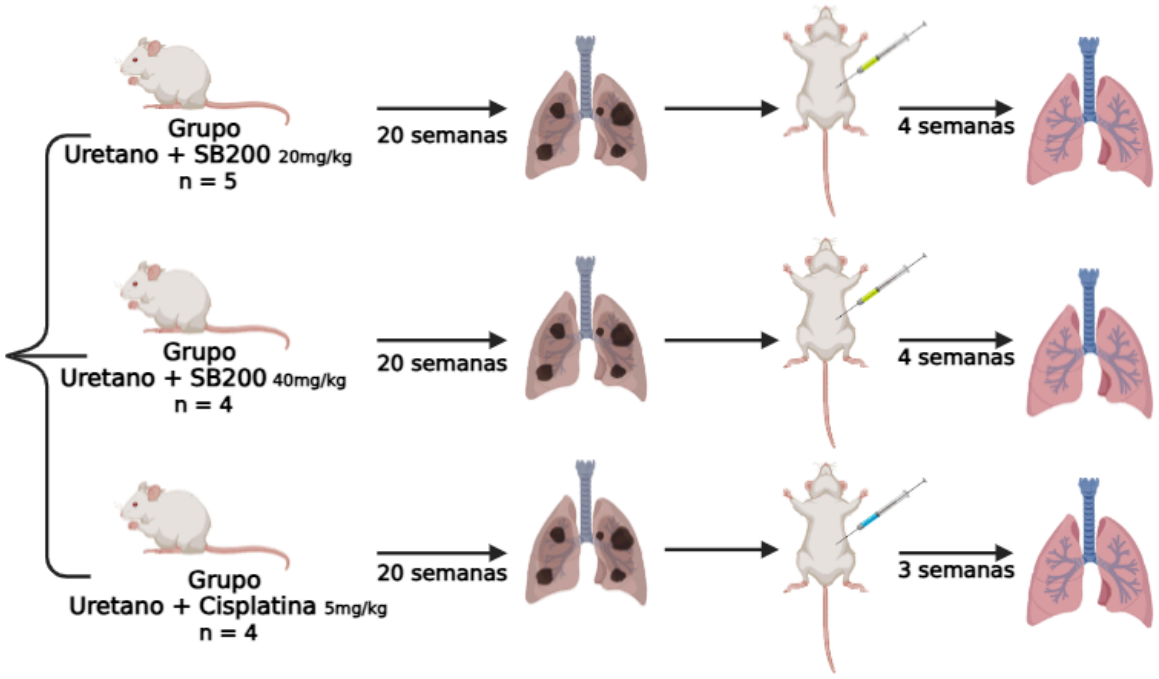
No experimento *in vivo*, após o período de indução com o uretano, os 13 camundongos foram subdivididos em grupos de tratamento. Um grupo experimental de 5 animais recebeu 20 mg/kg de SB200 por via intraperitoneal três vezes por semana, com intervalos de 1 dia entre as administrações, durante 4 semanas. Esta dosagem foi estabelecida com base no estudo de Lovejoy *et al*. (2012), que

demonstrou eficácia antitumoral em modelos experimentais utilizando derivados de tiossemicarbazonas, que apresentam mecanismos farmacológicos semelhantes aos derivados tiofênicos.

Paralelamente, um segundo grupo experimental com 4 animais recebeu 40 mg/kg de SB200 por via intraperitoneal três vezes por semana, com intervalos de 1 dia entre as administrações, durante 4 semanas. O dobro da dose foi testado para observar possíveis efeitos dose-dependentes do composto, ou seja, se um aumento na concentração resultaria em maior eficácia antitumoral ou alterações significativas na resposta farmacológica.

Por fim, um grupo controle positivo de 4 animais foi tratado com 5 mg/kg de cisplatina intraperitonealmente, 1 vez por semana, por 3 semanas, seguindo estudo de Radwan *et al.* (2020). A seleção de ambas as doses considerou critérios de equivalência farmacodinâmica e perfis de segurança estabelecidos na literatura para compostos antineoplásicos em modelos murinos. A Figura 3 ilustra de forma esquemática a separação dos grupos que receberam o tratamento.

Figura 3 – Esquema com a subdivisão do grupo tratamento.



Legenda: Após as 20 semanas de indução, começaram as aplicações com o composto SB200, que tiveram duração de 4 semanas e as aplicações com a cisplatina, que tiveram duração de 3 semanas.

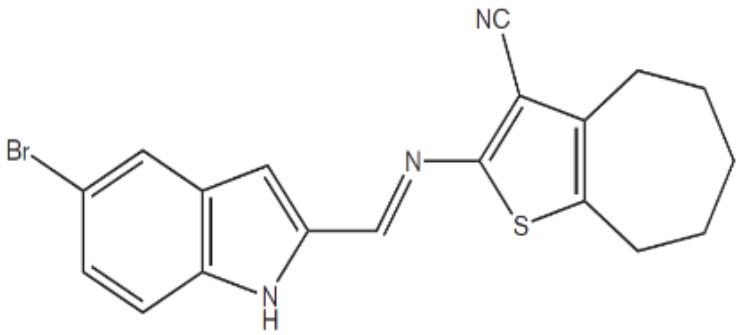
Fonte: Autoria própria (2025).

4.5.1 Procedência do Composto

O derivado de tiofeno SB200 que foi utilizado neste trabalho foi gentilmente cedido pelo Professor Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior e foi sintetizado pelo Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas (LSVM) pertencente a Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

O SB200 é um derivado da classe dos tiofenos com fórmula molecular $C_{19}H_{16}BrN_3S$ e peso molecular de 389,32 g/mol, identificado quimicamente como (5-Bromo-1H-Indol-3-ilmetileno)-(5,6,7,8-tetrahidro-4H-ciclohepta[b]tiofen-2-il)-amina. A estrutura química do composto está representada pela Figura 4.

Figura 4 - Imagem ilustrativa da estrutura química do derivado tiofênico SB200.



Fonte: Retirado de Dos Santos *et al.* (2018, p. 2).

4.6 Extração do RNA e síntese do cDNA

Após o sacrifício dos animais, o tecido pulmonar foi armazenado em RNAlater e preservado a -80°C até a extração do RNA. Antes do início da extração, o tecido foi cortado, pesado e armazenado em Trizol Reagent® (Thermo Fisher Scientific), permitindo a quebra celular, a liberação e a purificação do RNA, evitando sua degradação. Para a fragmentação do tecido foi utilizado o TissueLyser®, que, com esferas de cerâmica em tubos Eppendorf, fragmenta o tecido por agitação em alta velocidade, homogeneizando-o. O equipamento foi fornecido pela Qiagen®.

Após a fragmentação tecidual, as amostras ficaram 5 minutos em temperatura ambiente para dissociação do complexo protéico nuclear. Em seguida, após descongelamento completo, foram adicionados 150 µL de clorofórmio,

homogeneizados vigorosamente e incubados por 3 minutos em temperatura ambiente. As amostras foram centrifugadas a 12.000 rpm, a 4°C por 15 minutos e o sobrenadante com o RNA foi transferido para um novo tubo Eppendorf. Adicionou-se 375 µL de isopropanol (100%) e a mistura foi incubada overnight a -20°C.

Depois desse período, as amostras ficaram 10 minutos em temperatura ambiente e foram centrifugadas a 12.000 rpm, 4°C por 10 minutos para formar o pellet. O sobrenadante com isopropanol foi descartado, e o pellet lavado com 750 µL de etanol 70%, seguido de centrifugação a 7.500 rpm, 4°C por 5 minutos. O sobrenadante composto de etanol foi novamente descartado, e as amostras foram deixadas por 3 horas na cabine de fluxo para secar. Finalmente, foram ressuspendidas com 30 µL de água livre de RNAse e aquecidas em banho seco a 55°C durante 15 minutos. As amostras foram quantificadas utilizando Nanodrop® (Thermo Fisher) e armazenadas no freezer a -80°C.

A síntese do cDNA (DNA complementar) foi possível utilizando o kit de transcrição reversa cDNA Hight Capacity (AppliedBiosystems) e 500 ng das amostras de acordo com o procedimento de execução do fabricante.

4.7 Quantificação da expressão gênica

Para a quantificação da expressão gênica foi utilizada a metodologia da reação em cadeia de polimerase quantitativa em tempo real (RT-qPCR). As condições da ciclagem foram configuradas sequencialmente em duas etapas. A primeira etapa, também denominada de “hold stage”, é subdividida em dois passos: o step 1 mantém a amostra 2 minutos à temperatura de 50°C, e o step 2 a expõe por 10 minutos a 95°C. A segunda etapa, chamada de “PCR Stage”, também é dividida em dois passos: o primeiro submete a amostra a 40 ciclos de 15 segundos à 95°C e o segundo expõe a amostra à 60°C por 20 segundos.

Para a visualização das reações RT-PCR, os primers para os genes de interesse foram adicionados às amostras. Para as amostras *in vitro*, os primers correspondentes ao gene pró-apoptótico Bax (F: CCAAGAAGCTGAGCGAGTGTCT, R: AGCTCCATATTGCTGTCCAGTTC), ao anti-apoptótico Bcl-2 (F: CCTGTGGATG ACTGAGTACCTG, R: AGCCAGGAGAAATCAAACAGAGG) e o gene GAPDH foi empregado como controle endógeno (F: TGGCCTTCCGTGTTCCTAC, R: GAGTT GCTGTTGAAGTCGCA)

Nas amostras *in vivo*, além dos genes Bax e Bcl-2, os quais foram utilizados os mesmos primers do *in vitro*, o gene ACTB (Actina) foi utilizado como controle endógeno (F: GGCTGTATTCCCCTCCATCG, R: CCAGTTGGTAACAATGCCATGT). Todos os primers foram fornecidos pela Exxtend Biotecnologia. Após a realização das reações de RT-PCR, a expressão gênica relativa foi calculada por $2^{-\Delta\Delta CT}$.

4.8 Análise estatística

Todos os procedimentos foram realizados em duplicata e em dois experimentos independentes. Os dados foram apresentados como média ± desvio padrão da média e foram analisados utilizando o software GraphPad Prism® (versão 8), com o objetivo de comparar as médias entre os diferentes grupos experimentais. Inicialmente, a normalidade dos dados foi verificada em cada grupo por meio do teste de Shapiro-Wilk, e a homogeneidade das variâncias foi avaliada com o teste de Brown-Forsythe.

Para dados que se mostraram paramétricos (com distribuição normal e variâncias iguais), a análise de variância (ANOVA) ordinária foi empregada. Se os dados seguiam normalidade, mas apresentavam variâncias desiguais, utilizou-se a ANOVA de Welch. Em ambos os casos, a detecção de uma diferença significativa ($p < 0,05$) levou à aplicação de testes post-hoc para identificar os grupos diferentes.

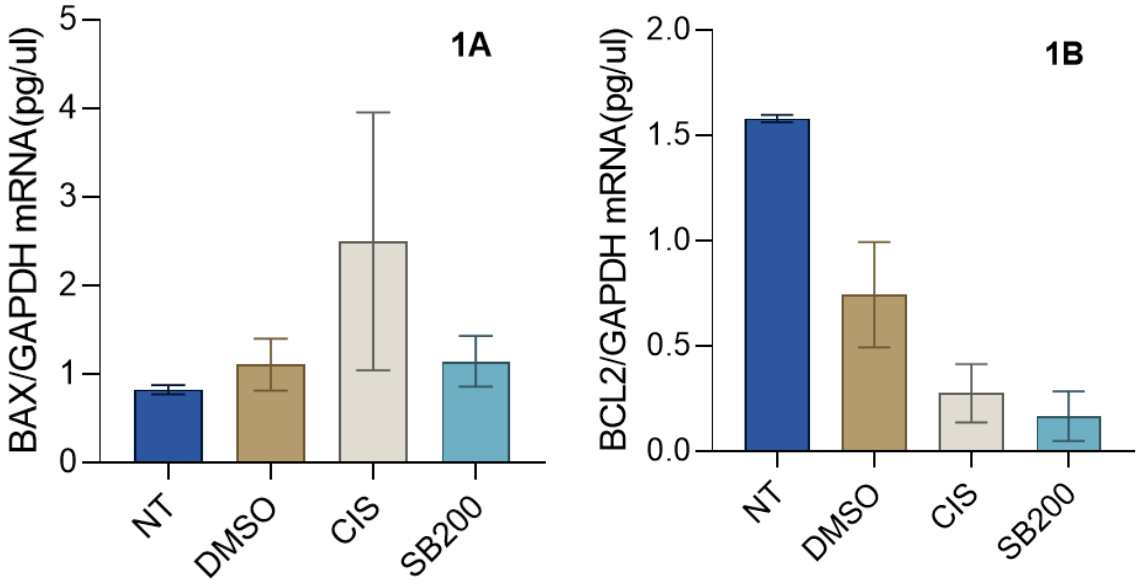
Para comparações de cada grupo de tratamento com o grupo controle (PBS), foi utilizado o teste de Dunnett. No caso de dados não-paramétricos (onde pelo menos um grupo não seguia a distribuição normal), a análise foi conduzida pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste post-hoc de Dunn para comparações entre o controle e os grupos de tratamento. O nível de significância adotado em todas as análises foi $p < 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na linhagem de neoplasia pulmonar NCI-H1299, o tratamento com o derivado tiofênico SB200 induziu um aumento discreto na expressão do gene pró-apoptótico Bax em comparação às células não tratadas (NT), apresentando níveis semelhantes ao controle tratado com DMSO (Gráfico 1A). Entretanto, observou-se uma expressão significativamente elevada do Bax nas células expostas à cisplatina, corroborando com o efeito apoptótico conhecido deste fármaco em células tumorais.

Quanto ao gene anti-apoptótico Bcl-2, observou-se uma redução significativa na sua expressão após o tratamento com o SB200, superando até mesmo o efeito da cisplatina, que, conforme esperado, também suprimiu Bcl-2 em comparação com o NT e controle DMSO (Gráfico 1B). Esses dados sugerem um mecanismo pró-apoptótico do derivado tiofênico *in vitro*, possivelmente mediado pela inibição de Bcl-2. Para ambos os genes não foi encontrado significância, possivelmente devido ao *n* amostral de apenas dois experimentos independentes. Novos ensaios serão realizados para confirmar se os genes são modulados pelo derivado tiofênico.

Gráficos 1A e 1B – Expressão dos genes pró-apoptótico Bax e anti-apoptótico Bcl-2 em linhagem de neoplasia pulmonar.

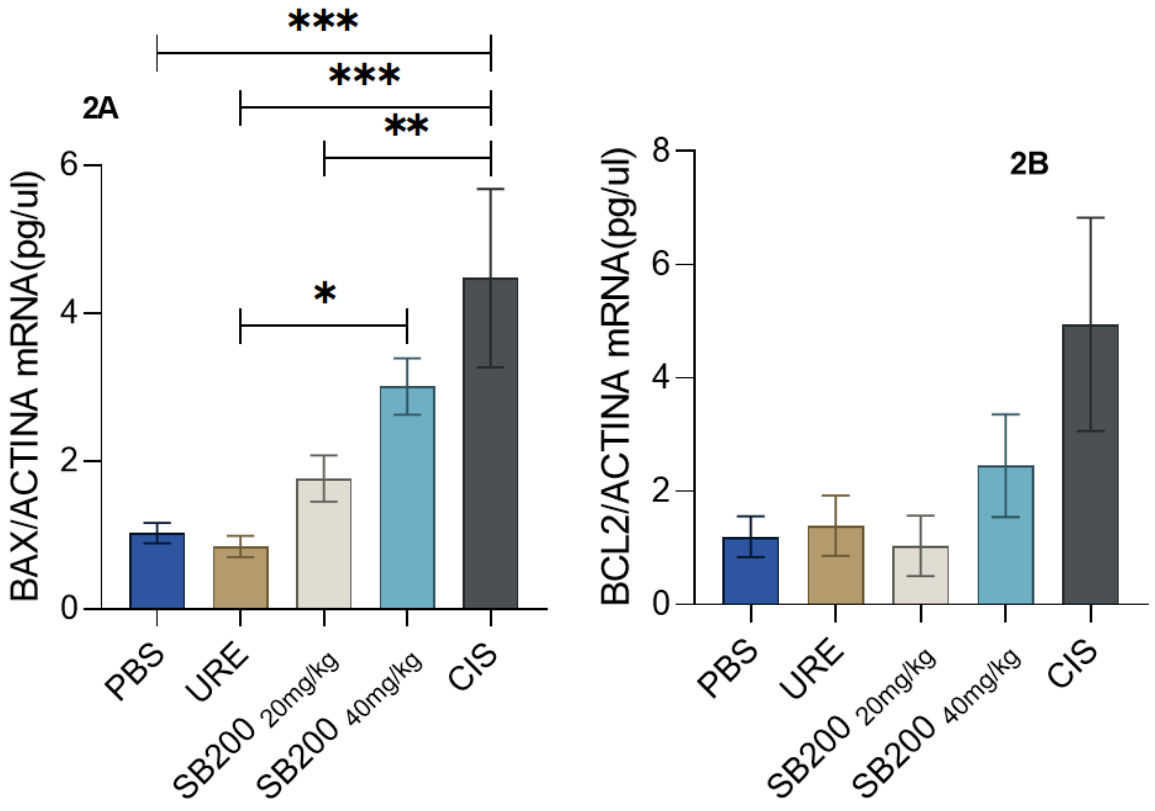


Fonte: Autoria própria (2025).

No modelo *in vivo*, o tratamento com o SB200 induziu um aumento significativo na expressão do gene pró-apoptótico Bax em comparação com o controle PBS e o uretano (Gráfico 2A). Esse efeito exibiu um perfil dose-dependente, com a expressão do Bax aumentando progressivamente em resposta às doses de 20 e 40 mg/kg do derivado. A cisplatina também promoveu uma elevação acentuada na expressão do Bax.

Por outro lado, na expressão do gene Bcl-2, observou-se uma discreta elevação no uretano, quando comparado ao controle PBS e a dose de 20 mg/kg no tratamento do SB200 (Gráfico 2B). A alta expressão observada nos tratamentos com 40 mg/kg do SB200 e com a cisplatina, sugere um mecanismo de compensação das células tumorais, que tentam contrabalançar a ativação das vias pró-apoptóticas para evitar a morte celular programada. Entretanto, não foram encontrados resultados significativos para Bcl-2.

Gráficos 2A e 2B – Modulação da expressão dos genes pró-apoptótico Bax e anti-apoptótico Bcl-2 em modelo *in vivo* de CP.



Legenda: * p value < 0,05; ** p value < 0,005; *** p value < 0,0005.

Fonte: Autoria própria (2025).

Os derivados de tiofenos surgiram como uma classe versátil de moléculas heterocíclicas com amplo potencial farmacológico, incluindo sua atividade antineoplásica. Os resultados desse estudo com o SB200 em modelos de CP demonstraram sua capacidade de modular a expressão de genes apoptóticos, como a supressão significativa de Bcl-2 *in vitro* e a indução dose-dependente de Bax *in vivo*. Esses achados se alinham com estudos anteriores que destacam a capacidade dos tiofenos de atuar em vias de morte celular.

Em linhagem celular de câncer de mama, o SB200 também induziu a expressão de Bax e Bid, detectados por imunofluorescência (Dos Santos *et al*., 2018), reforçando seu potencial pró-apoptótico em diferentes contextos tumorais. Esse potencial foi igualmente observado em linhagens celulares de câncer de próstata, o qual Da Silva *et al*. (2023) relataram que o SB200 induziu apoptose, detectada por anexina V/PI, e promoveu aumento de cPARP, um marcador bioquímico clássico da ativação de caspases.

A variação entre esses três mecanismos de ação sugere que o derivado SB200, assim como outros tiofenos, pode ter alvos moleculares distintos a depender do tipo tumoral, possivelmente influenciado pelo microambiente tumoral ou perfil genético celular.

Além disso, estudos têm elucidado mecanismos adicionais pelos quais os derivados tiofênicos exercem sua ação antitumoral. Swain *et al.* (2023) demonstraram que, em linhagens celulares leucêmicas, o derivado F8 demonstrou capacidade de induzir apoptose através da ativação das caspases efetoras 3 e 7, externalização da fosfatidilserina, geração de EROs, despolarização mitocondrial e fragmentação do DNA.

Notavelmente, o composto também inibiu a fosforilação de proteínas da via JAK-STAT, principalmente STAT3 e STAT5. Esses resultados sugerem que derivados de tiofenos podem atuar em diversas vias essenciais para a sobrevivência celular, oferecendo uma vantagem terapêutica em comparação com medicamentos tradicionais como a cisplatina (Swain *et al*., 2023).

Em modelo *in vivo* com camundongos swiss, o estudo de ElBakary *et al.* (2022) demonstrou a capacidade de derivados tiofênicos em induzir apoptose por meio de mecanismos moleculares precisos, como clivagem genômica do DNA, ativação da proteína p53, que regula genes pró-apoptóticos nas vias intrínseca e extrínseca e a supressão de genes anti-apoptóticos em modelo de câncer colorretal.

De forma semelhante, em outro modelo *in vivo* com camundongos swiss, Algharib *et al*. (2022) observaram que o derivado tiofênico BFB também ativou vias apoptóticas na leucemia mielóide aguda, através de ativação da p53 e caspase 3 e inibição da via de sobrevivência celular pAkt. Esses achados corroboram a ação apoptótica dos tiofenos *in vivo*, demonstrada em neoplasias hematológicas, complementando os resultados anteriores em tumores sólidos.

No presente estudo, o modelo *in vivo* de câncer de pulmão induzido por uretano, que mimetiza o subtipo adenocarcinoma e está associado principalmente a mutações no gene KRAS (Keohavong, P; Peter Di, Y., 2021), revelou efeitos significativos na modulação do gene Bax após tratamento com SB200. Por se tratar de um modelo complexo, possivelmente é uma via importante para o mecanismo de ação que necessita de outros estudos para definir melhor a via apoptótica ou outras vias de indução de morte.

No ensaio *in vitro*, o qual foi testado a linhagem de carcinoma de células não pequenas, NCI-H1299, a redução da expressão de Bcl-2 foi mais pronunciada do que o aumento do gene Bax, sugerindo que o composto SB200 pode atuar prioritariamente na supressão de genes anti-apoptóticos nesse contexto.

Como perspectivas futuras, seria interessante expandir a avaliação para outras linhagens de câncer de pulmão, como a A549, a fim de investigar se os efeitos do SB200 são consistentes em diferentes tipos celulares. Além disso, a análise de outros membros da família Bcl-2 (como Bad e Bcl-xL) e de proteínas efetoras da apoptose (como as caspases) poderia elucidar melhor o mecanismo de ação do composto. Estudos adicionais em modelos *in vivo* com combinações terapêuticas também poderiam explorar estratégias para superar possíveis mecanismos de escape celular.

Em resumo, os dados apresentados neste estudo fornecem evidências sólidas do potencial do SB200 como agente antitumoral, ao mesmo tempo em que apontam caminhos promissores para pesquisas futuras. A implementação dessas perspectivas não apenas aprofundará nosso entendimento sobre o mecanismo de ação deste composto, como também abrirá novas possibilidades para o desenvolvimento de terapias mais eficazes contra o CP, especialmente em combinação com outras abordagens direcionadas a vias de resistência.

6. CONCLUSÃO

Nas células NCI-H1299, o derivado tiofênico aumentou de forma discreta a expressão de Bax. Além disso, o derivado SB200 induziu uma redução na expressão do gene Bcl-2 nessa linhagem neoplásica, quando comparado aos controles NT, DMSO e cisplatina.

No modelo *in vivo* de indução por uretano, o derivado induziu um aumento significativo e dose-dependente no gene Bax em comparação ao controle com PBS e ao grupo uretano. Por outro lado, em relação ao gene Bcl-2, verificou-se um aumento possivelmente compensatório após o tratamento com a maior dose do derivado SB200 e com a cisplatina no modelo murino.

REFERÊNCIAS

Algharib, A. S. *et al*. Bithiophene derivative induced apoptosis and suppression of Akt pathway in mouse leukemic model. **Tumor Biology**, [S. l.], v. 44, n. 1, p. 53-67, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3233/TUB-211538.

Araujo, L. H. *et al*. Lung cancer in Brazil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia, Brasília**, v. 44, n. 1, p. 55-64, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S1806-37562017000000135.

Bade, B, C.; Dela Cruz, C. S. Lung cancer 2020: Epidemiology, etiology, and prevention. **Clinics in Chest Medicine**, [S. l.], v. 41, n. 1, p. 1–24, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ccm.2019.10.001.

Coudray, N. *et al*. Classification and mutation prediction from non-small cell lung cancer histopathology images using deep learning. **Nature Medicine**, [S. l.], v. 24, n. 10, p. 1559–1567, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41591-018-0177-5.

Chevallier, M. *et al*. Oncogenic driver mutations in non-small cell lung cancer: Past, present and future. **World Journal of Clinical Oncology**, [S. l.], v. 12, n. 4, p. 217–237, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.5306/wjco.v12.i4.217.

Czabotar, P. E. *et al*. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 15, n. 1, p. 49-63, Jan. 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1038/nrm3722.

Da Silva, E. D. L. *et al*. Genotoxicity and anticancer effects of the aminothiophene derivatives SB-44, SB-83 and SB-200 in cancer cells. **Anticancer Agents in Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 23, n. 12m p. 1447-1456, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.2174/1871520623666230321123950.

Dos Santos, F. A. *et al.* Anticancer properties of thiophene derivatives in breast cancer MCF-7 cells. **Anti-cancer drugs**, v. 29, n. 2, p. 157-166, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1097/CAD.0000000000000581.

Elbakary, N. M. *et al*. New thiophene derivative augments the antitumor activity of γ-irradiation against colorectal cancer in mice via anti-inflammatory and pro-apoptotic

pathways. **Discover Oncology**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 119, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s12672-022-00583-1.

Ghosh, S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. **Bioorganic Chemistry**, [S. l.], v. 88, p. 102925, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.102925.

GLOBOCAN (WHO), **World Health Organization**. Cancer Today.gco.iarc.who. int. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&group_populations=1>.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil. **INCA - Instituto Nacional de Câncer**. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2023-incidencia-de-cancer-no-brasil>.

Keohavong, P.; Di, Y. P. Pulmonary Inflammation and KRAS Mutation in Lung Cancer. In: Wang, Y. X. (ed.). **Lung Inflammation in Health and Disease, Volume I**. Advances in Experimental Medicine and Biology, [S. l.], v. 1303, p. 71-87, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-030-63046-1_5.

Kim, S. Y.; Park, H. S.; Chiang, A. C. Small Cell Lung Cancer: A Review. **JAMA**, [S. l.], v. 333, n. 21, p. 1906–1917, 2025. Disponível em: https://doi.org/10.1001/jama.2025.0560.

Kobayashi, Y.; Mitsudomi, T. Not all epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer are created equal: Perspectives for individualized treatment strategy. **Cancer Science**, [S. l.], v. 107, n. 9, p. 1179–1186, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1111/cas.12996.

Lovejoy, D. B. *et al*. Novel second-generation di-2-pyridylketone thiosemicarbazones show synergism with standard chemotherapeutics and demonstrate potent activity against lung cancer xenografts after oral and intravenous administration in vivo. **Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 55, n. 16, p. 7230–7244, 2012. Disponível em: https://doi.org/10.1021/jm300768u.

Mathias, C. *et al*. Lung Cancer in Brazil. **Journal of Thoracic Oncology**, [S. l.], v. 15, n. 2, p. 170–175, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.07.028.

Nooreeldeen, R.; Bach, H. Current and Future Development in Lung Cancer Diagnosis. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 22, n. 16, p. 8661, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3390/ijms22168661.

Oliveira, J. F. *et al*. Synthesis of thiophene-thiosemicarbazone derivatives and evaluation of their in vitro and in vivo antitumor activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 104, p. 148-156, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.09.036.

Paschoal, M. E. M. Epidemiologia do câncer de pulmão. **Pulmão RJ**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 1, p. 6-10, 2023.

Qian, S. *et al*. The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. **Frontiers in Oncology**, [S. l.], v. 12, p. 985363, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fonc.2022.985363.

Radwan, E. *et al*. Novel therapeutic regimens for urethane-induced early lung cancer in rats: Combined cisplatin nanoparticles with vitamin-D3. **IUBMB Life**, [S. l.], v. 73, n. 2, p. 362-374, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1002/iub.2432.

Reck, M. *et al*. Targeting KRAS in non-small-cell lung cancer: recent progress and new approaches. **Annals of Oncology**, [S. l.], v. 32, n. 9, p. 1101–1110, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.06.001.

Relli, V. *et al*. Abandoning the Notion of Non-Small Cell Lung Cancer. **Trends in Molecular Medicine**, [S. l.], v. 25, n. 7, p. 585–594, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.molmed.2019.04.012.

Rodrigues, K. A. D. *et al*. SB-83, a 2-Amino-thiophene derivative orally bioavailable candidate for the leishmaniasis treatment. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S. l.], v. 108, p. 1670-1678, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.012.

Rodriguez-Canales, J.; Parra-Cuentas, E.; Wistuba, I. I. Diagnosis and Molecular Classification of Lung Cancer. **Cancer Treatment and Research**, [S. l.], v. 170, p. 25–46, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-319-40389-2_2.

Rudin, C. M. *et al*. Small-cell lung cancer. **Nature Reviews Disease Primers**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 3, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41572-020-00235-0.

Ruiz-Cordero, R.; Devine, W. P. Targeted Therapy and Checkpoint Immunotherapy in Lung Cancer. **Surgical Pathology Clinics**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 17–33, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.path.2019.11.002.

SBOC (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ONCOLOGIA CLÍNICA) A. Pulmão não-pequenas células: doença localizada e localmente avançada. [s.l.: s.n.], 2024. Disponível em: <https://sboc.org.br/images/Diretrizes-2024/pdf/32---Diretrizes-SBOC-2024---Pulmao-NSCLC-localizado-v3-FINAL.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2025.

SBOC (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ONCOLOGIA CLÍNICA) B. Pulmão Pequenas Células. https://sboc.org.br/diretrizes-2024. Disponível em: <https://sboc.org.br/images/Diretrizes-2024/pdf/33---Diretrizes-SBOC-2024---Pulmao-SCLC-v5-FINAL.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2025.

SBOC (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ONCOLOGIA CLÍNICA) C. Tumores Neuroendócrinos Pulmonares. https://sboc.org.br/diretrizes-2024. Disponível em: <https://sboc.org.br/images/Diretrizes-2024/pdf/38---Diretrizes-SBOC-2024---NET-pulmonares-v3-FINAL.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2025.

Shields, M. D.; Marin-Acevedo, J. A.; Pellini, B. Immunotherapy for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: A Decade of Progress. **American Society of Clinical Oncology Educational Book**, [S. l.], v. 41, p. 1–23, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1200/EDBK_321483.

Sozio, F. *et al*. Urethane-induced lung carcinogenesis. **Methods in Cell Biology**, [S. l.], v. 163, p. 45–57, 2021. DOI: 10.1016/bs.mcb.2020.09.005. Disponível em: https://doi.org/10.1016/bs.mcb.2020.09.005.

Swain, R. M. *et al*. Thiophene derivative inflicts cytotoxicity via an intrinsic apoptotic pathway on human acute lymphoblastic leukemia cells. **PLoS One**, [S. l.], v. 18, n. 12, p. e0295441, 2023. DOI: 10.1371/journal.pone.0295441. Disponível em: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0295441.

Tan, A. C.; Tan, D. S. W. Targeted Therapies for Lung Cancer Patients With Oncogenic Driver Molecular Alterations. **Journal of Clinical Oncology**, [S. l.], v. 40, n. 6, p. 611–625, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1200/JCO.21.01626.

Tudor, G. *et al*. Susceptibility to drug-induced apoptosis correlates with differential modulation of Bad, Bcl-2 and Bcl-xL protein levels. **Cell Death and Differentiation**, [S. l.], v. 7, n. 6, p. 574–586, 2000. Disponível em: https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4400688.

Veiga, C. R. P. *et al*. Immune checkpoint inhibitors for the treatment of non-small cell lung cancer: The regulatory journey in Brazil. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, [S. l.], v. 192, p. 104138, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2023.104138.

Vogler, M. *et al*. The BCL2 family: from apoptosis mechanisms to new advances in targeted therapy. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 91, 2025. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41392-025-02176-0.

Zheng, M. Classification and Pathology of Lung Cancer. **Surgical Oncology Clinics of North America**, [S. l.], v. 25, n. 3, p. 447–468, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.soc.2016.02.003.

ANEXOS

ANEXO A

Cópia do parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife – PE – Brasil
Fones: 2126 8842
ceua@ufpe.br

Recife, 19 de setembro de 2024

Ofício nº 73/24

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: Prof. Michelly Cristiny Pereira
Departamento de Fisiologia e Farmacologia
Processo nº 0058/2024

Certificamos que a proposta intitulada "**Avaliação da atividade antineoplásica de derivados de tiossemicarbazonas em modelos in vivo de neoplasia pulmonar".** Registrado com o **nº 0058/2024** sob a Responsabilidade da Prof. **Michelly Cristiny Pereira** Que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 27/08/2024

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/09/2024 a 31/08/2025
Espécie/linhagem/raça	Camundongo isogênico (Rattus Norvegicus albinus)
Nº de animais	80 animais
Peso/Idade	20-25g/ 6/8sem
Sexo	Macho (80)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE.
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia.

Atenciosamente

Prof. Sebastião R. F. Silva
Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345691